

正常ラット網膜電図律動様小波の最大エントロピー法による解析 (図8, 表5)

北川 康介・玉井 嗣彦 (高知医科大学眼科学教室)

斉藤 英郎 (高知医科大学第1生理学教室)

Analysis of the Oscillatory Potentials of the Normal Rat Electroretinogram by the Maximum Entropy Method

Kosuke Kitagawa, Akihiko Tamai and Hideo Saito¹⁾

Department of Ophthalmology, Kochi Medical School

1) First Department of Physiology, Kochi Medical School

要 約

最大エントロピー法 (MEM) は、高速フーリエ変換 (FFT) に比して非常に高い周波数分解能を持つ。今回、我々は MEM を用いてラット ERG 律動様小波 (OPs) の解析を試みた。ウレタン麻酔した Wistar 系ラットを用い、微小ガラス電極を眼球内に挿入し記録電極とし、刺激の強度・間隔を変化させ暗順応下で ERG を記録した。光源にはキセノンランプを用い、光ファイバーにて角膜面に照射、同一条件で50回加算しフロッピーディスクに保存後、FFTを行ない ERG 全体のパワースペクトルを求め、逆フーリエ変換を用い OPs 周波数帯域を取り出し、 $O_1 \sim O_4$ の認められる区間に対して MEM によるスペクトル解析を行なった。OPs の周波数帯域には、FFT による解析では刺激条件によって数個のピークが認められたが、MEM では刺激条件によらず2つのピーク (peak 1, peak 2) が認められた。これより、OPs は主に網膜内顆粒層レベルでの2つのニューロン・サーキットの関与により生じているものと推測された。(日眼 91: 1227—1234, 1987)

キーワード：律動様小波 (OPs), ラット網膜電図 (ERG), 最大エントロピー法 (MEM), 高速フーリエ変換 (FFT), 逆フーリエ変換

Abstract

We analyzed the oscillatory potentials (OPs) of the rat electroretinogram (ERG) by the maximum entropy method (MEM), which shows much higher frequency definition than the fast Fourier transformation (FFT) method. Five ophthalmoscopically normal, adult male Wistar strain rats were used. They were given general anesthesia with urethane (1~1.2g/kg) and placed on a stereotaxic apparatus. A glass microelectrode was inserted into the vitreous cavity from the pars plana, as an active electrode. After one hour of dark adaptation, the ERG recording was made, changing the intensity or interval of the photic stimulation. The stimulus light from a xenon flash lamp was delivered to the cornea through optic fibers. The average of 50 ERGs after dark adaptation was calculated using a signal processor and stored on floppy disks. FFT analysis of the ERGs was performed and the power spectrum of all ERGs was recorded. Then the ERGs were digitally filtered using the inverse Fourier transformation method to selectively obtain the OPs components ($O_1 \sim O_4$). Finally, MEM analysis was performed on the sampling section of the OPs components. In the frequency range of the OPs, several peaks of the power spectrum were detected by the FFT analysis, but only two peaks of the spectrum

別刷請求先：781-51 南国市岡豊町小蓮 高知医科大学眼科学教室 北川 康介

Reprint requests to: Kosuke Kitagawa, M.D. Dept. of Ophthalmol., Kochi Medical School

Kohasu, Oko-cho, Nankoku-shi 781-51, Japan

(昭和62年7月6日受付) (Accepted July 6, 1987)

(peak 1 and peak 2) were observed by the MEM analysis irrespective of changes in stimulus parameters. These results suggest that the OPs of the rat ERG are mainly generated by two major neuron circuits: neuron feedback circuits through the bipolar cell to amacrine cells and the intraretinal centrifugal pathway including the interplexiform cell and horizontal cell, at the level of the inner nuclear layer of the retina. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91: 1227—1234, 1987)

Key words: oscillatory potentials (OPs), rat electroretinogram (ERG), maximum entropy method (MEM), fast Fourier transformation (FFT), inverse Fourier transformation

I 緒 言

網膜電図 (electroretinogram; ERG) の律動様小波 (oscillatory potentials; OPs) は、a 波に続く b 波の上行脚に重畳する数個の小波 ($O_1 \sim O_4$) をいうが、この起源については未だはっきりとした定説はなく、双極細胞、アマクリン細胞、網状層間細胞 (interplexiform cell) ないしこれを介しての水平細胞など網膜内顆粒層レベルの細胞の関与¹⁾がいわれている。また、各々の小波が同一の起源であるか、あるいは複数の起源であるかも確定していない。

ERG の解析方法として、従来の潜時、振幅、位相を測定して時間的特徴を捉える方法¹⁾の他に、数学的手法によりスペクトル解析を行ない周波数の特徴を捉える方法がある。後者にはこれまで高速フーリエ変換 (fast Fourier transformation; FFT) と、線形予測 (linear prediction; LP) を用いた報告例^{2)~5)}があるが、これらの方法では周波数分解能が十分でなく、複数の波が重なっている可能性のある OPs の解析には適しているとはいえない。今回我々は、周波数分解能に優れた最大エントロピー法 (maximum entropy method; MEM)⁶⁾⁷⁾を用いて OPs の解析を試みたので報告する。

II 実験方法

対象としては、検眼鏡的に眼底に異常を認めない成熟した雄性 Wistar 系ラット 5 匹を用い、urethane (1~1.2g/kg) 腹腔内投与後、脳固定装置に固定し毛様体扁平部より微小ガラス管電極 (先端外径: 250~350 μm) を硝子体内に挿入し関電極とした。この電極に充填する電解液として、乳酸リンゲル液を使用し、不関電極は頭部皮膚に取った。光刺激には光刺激装置 (日本光電 SLS-4100) のキセノン閃光を使用し、これをコンデンサーレンズにて集光し光ファイバーを通じて角膜面に照射した。瞳孔は 0.5% tropicamide と 0.5%

phenylephrine hydrochloride によって完全に散瞳させた。

実験は、1 時間以上暗順応させた後行ない、光刺激の強度と間隔 (以下刺激強度、刺激間隔というのはこれを指す) を変化させて、ERG を記録した。すなわち、刺激強度は $-1.5\log \text{ unit}$, $-1\log \text{ unit}$, $0\log \text{ unit}$ の 3 種類を用い、角膜直前にて $3,000\text{cd}/\text{m}^2$ の強度を $0\log \text{ unit}$ とした。刺激間隔は、5sec, 3sec, 1sec, 0.5sec の 4 段階とした。なお、原波形の記録に際して増幅器 (日本光電 AB-600G) の時定数は 0.3sec, high cut は 1kHz であった。実験は午前 9 時から 2 時頃までの間に行ない、室温は $22 \sim 24^\circ\text{C}$ とした。実験中は動物の呼吸と心拍数に注意し、全身状態の不良が予想された場合は、その回復を待って実験を行なった。ERG 記録眼は、右眼とした。

ERG、シグナルプロセッサ (NEC-San-ei 7T18) にて標本間隔 5msec、標本点数 1,024 点でサンプリングし、50 回積算平均化を行なった後データをフロッピーディスクに保存した。まず、FFT にて ERG 全体のパワースペクトルを求めた。後に逆フーリエ変換を用いて OPs 成分を含む周波数帯域のみを取り出して、パーソナル・コンピュータ (IBM 5550, NEC PC-9801UV2) に転送して、OPs の頂点潜時、頂点間隔の計測、及び MEM による OPs の解析を行なった (図 1)。

図 2 には、暗順応下に刺激強度 $0\log \text{ unit}$ で記録したラット ERG の原波形の 1 例を、図 3 には、逆フーリエ変換時の同 ERG の OPs を示した。逆フーリエ波形にみられる OPs の頂点潜時、OPs 各々の頂点間隔 (T_1 , T_2 , T_3) の計測は米村¹⁾の方法に準じて行なった。MEM は $O_1 \sim O_4$ の認められる区間 (標本点数約 100 点) のみに対して行ない、自己回帰モデルの次数は $2\sqrt{N}$ (標本数 = N) とし、Burg アルゴリズムを用いた⁶⁾⁷⁾。

III 結 果

図 4 に刺激強度 $-1.5\log \text{ unit}$ 、刺激間隔 5sec で記録

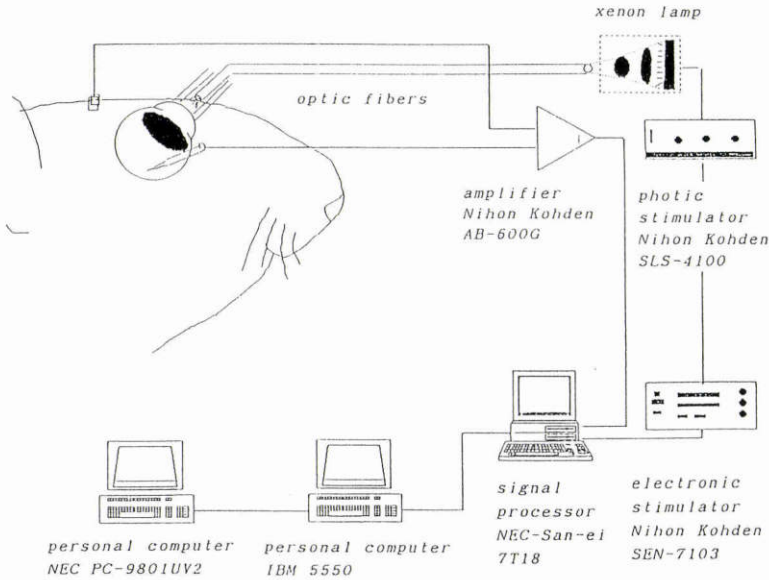


図1 実験装置のブロックダイアグラム

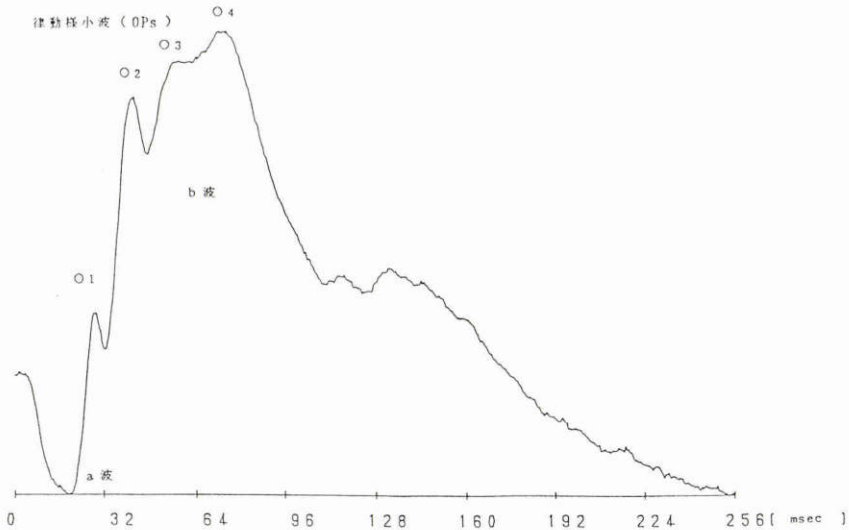


図2 暗順応下記録のラット ERG 原波形の1例(標本間隔5msec, 刺激強度0log unit, 加算回数50回)

された両スペクトルの1例を示す。OPsの周波数帯域には、FFTによるスペクトル推定では、刺激条件により互いに重なり合った2～5個のピークが見られ、MEMによるスペクトル推定では、刺激条件によらず常に独立した2つのピーク (peak 1, peak 2と呼称) が認められた。

1. 刺激強度による変化

刺激強度による暗順応下記録ラット ERG 原波形の

変化(刺激間隔5sec)の1例を図5に、同波形の逆フーリエ変換時の刺激強度によるOPsの変化を図6に示した。逆フーリエ変換時の刺激強度によるOPs成分の変化(刺激間隔5sec)は表1にみるとおり、O₁の頂点潜時は、刺激が強くなるに従って短縮しており、OPs各々の頂点間隔(T₁, T₂, T₃)は刺激が強くなるに従って延長する傾向を示した。MEM解析時の刺激強度によるOPs成分スペクトルの変化(刺激間隔5sec)は表

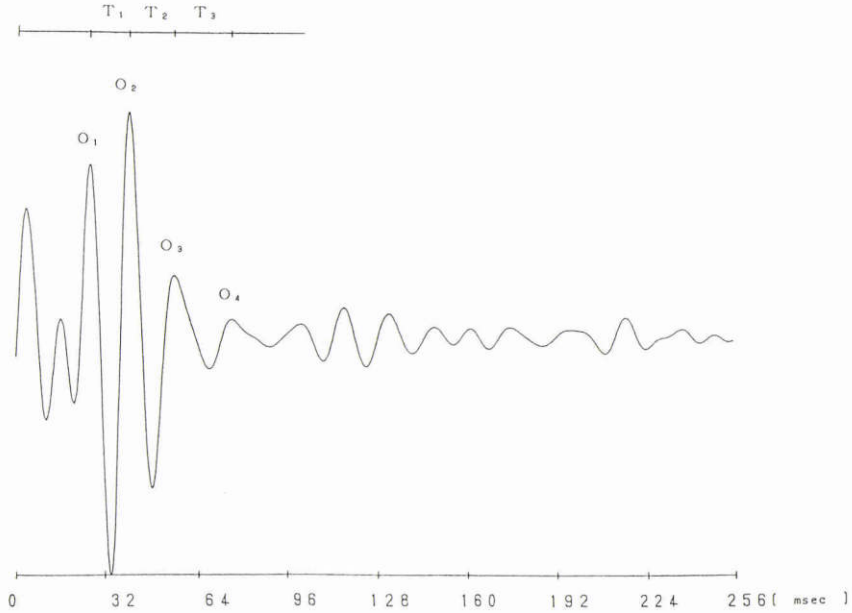


図3 逆フーリエ変換時のラット ERG 律動様小波の1例. T_1, T_2, T_3 はそれぞれ $O_1 \cdot O_2, O_2 \cdot O_3, O_3 \cdot O_4$ の頂点間隔を示す. (標本間隔5msec)

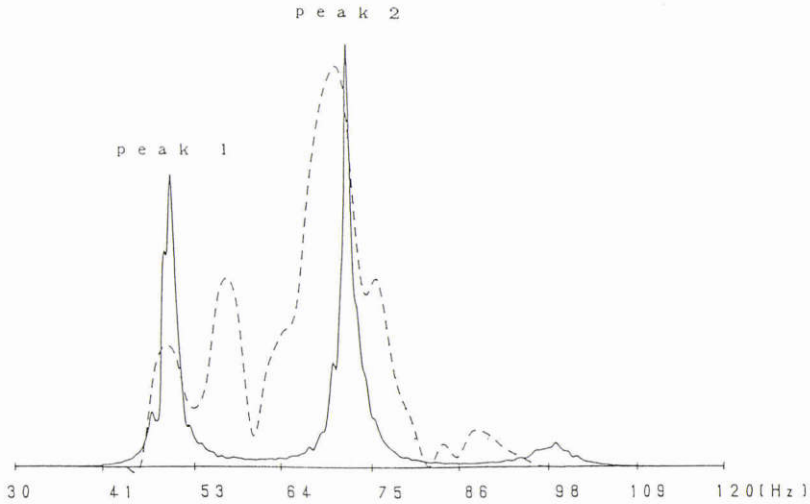


図4 MEMによるスペクトルとFFTによるスペクトルの1例. 実線はMEMによるスペクトル, 破線はFFTによるスペクトル (刺激強度-1.5log unit, 刺激間隔5 sec)

2に示したが、本解析によって認められる2つのピーク、すなわち-1.5log unitの刺激強度で 68.2 ± 20.3 Hz (S.D., 以下同様)を示した peak 1ならびに 98.0 ± 17.8 Hzを示した peak 2は、刺激が強くなるに従って共に低い周波数にシフトした。

2. 刺激間隔による変化

刺激間隔による暗順応下記録のラット ERG 原波形の変化 (刺激強度-1log unit) の1例を図7に、同波形の逆フーリエ変換時の刺激間隔によるOPsの変化を図8に示した。逆フーリエ変換時の刺激強度によるOPs成分の変化 (刺激強度-1log unit) は表3にみるとおり、 O_1 の頂点潜時は、刺激間隔を短くするに従っ

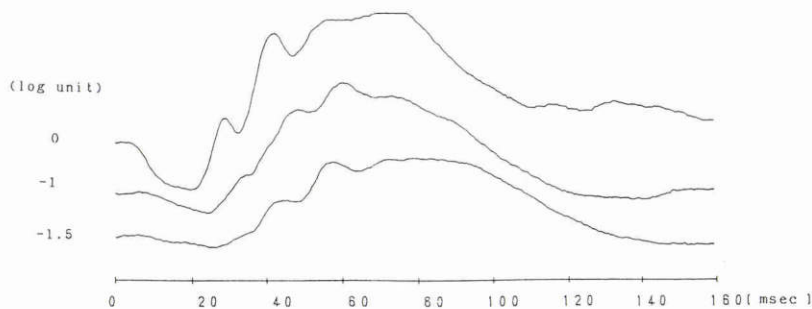


図5 刺激強度による ERG 原波形の変化の 1 例 (刺激間隔5sec)

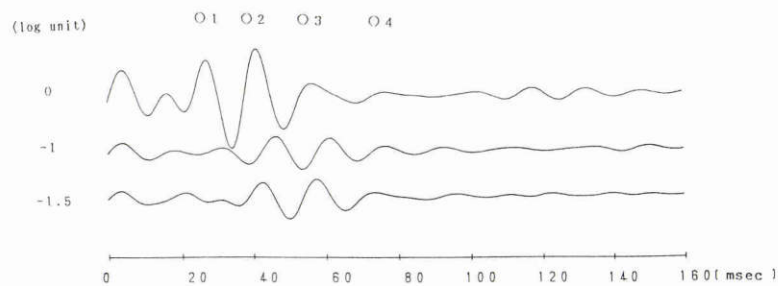


図6 逆フーリエ変換時の刺激強度による律動様小波の変化の 1 例 (刺激間隔5sec)

表 1 逆フーリエ変換時の刺激強度による律動様小波成分の変化

O₁ は O₁ の頂点潜時, T₁, T₂, T₃ はそれぞれ O₁-O₂, O₂-O₃, O₃-O₄ の頂点間隔を示す。(刺激間隔 5 sec, N=5)

刺激強度 (log unit)	O ₁ (msec)		T ₁ (msec)		T ₂ (msec)		T ₃ (msec)	
	平均	S.D.	平均	S.D.	平均	S.D.	平均	S.D.
-1.5	31.1	5.2	9.6	1.2	13.1	1.5	14.9	2.5
-1	29.4	5.2	13.4	3.2	14.0	2.1	14.1	2.4
0	26.8	2.5	12.7	1.0	15.6	1.2	19.0	2.2

表 2 MEM 解析時の刺激強度による律動様小波成分スペクトルの変化

peak 1 は周波数の低いピーク, peak 2 は周波数の高いピークを示す。(刺激間隔 5 sec, N=5)

刺激強度 (log unit)	peak 1 (Hz)		peak 2 (Hz)	
	平均	S.D.	平均	S.D.
-1.5	68.2	20.3	98.0	17.8
-1	58.4	7.0	85.8	8.8
0	55.6	5.6	83.0	5.3

て延長したが、OPs 各々の頂点間隔(T₁, T₂, T₃)には変化はほとんど認められなかった。MEM 解析時の刺激強度による OPs 成分スペクトルの変化(刺激強度-1log unit)は表 4 に示したが、本解析によって認

められる 2 つのピーク (peak 1, peak 2) は刺激間隔が 5sec から 0.5sec と短縮しても前者で 59.0Hz 前後、後者で 85.0Hz 前後を示し、刺激間隔による変化はほとんど認められなかった。

IV 考 按

この種の動物実験では、室温、実験の時間帯、暗順応時間、全身の状態、麻酔薬投与方法などが観察波形に微妙な影響を与えることが指摘されている⁸⁾⁹⁾。従って、この種の実験条件をできるだけ一定に保ち、かつ動物を弱らせないで生理的状态を保ちつつ、再現性の良い ERG 波形を記録することに留意した。

また、記録電極の接触状態も波形の「ばらつき」にかなりの影響を有している⁹⁾ので、今回の実験では確

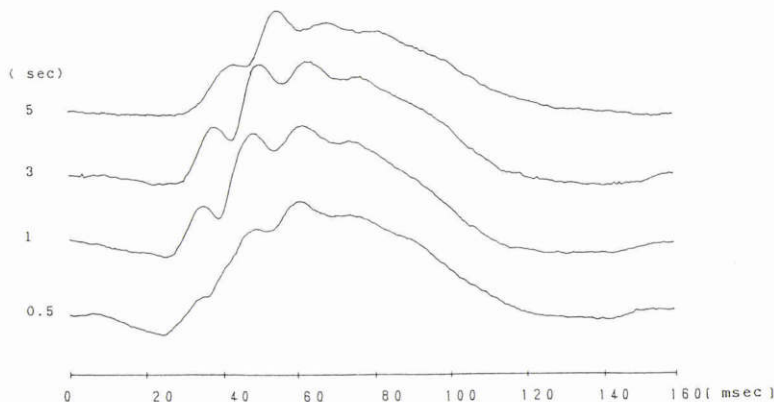


図7 刺激間隔によるラット ERG 原波形の変化の1例 (刺激強度—1log unit)

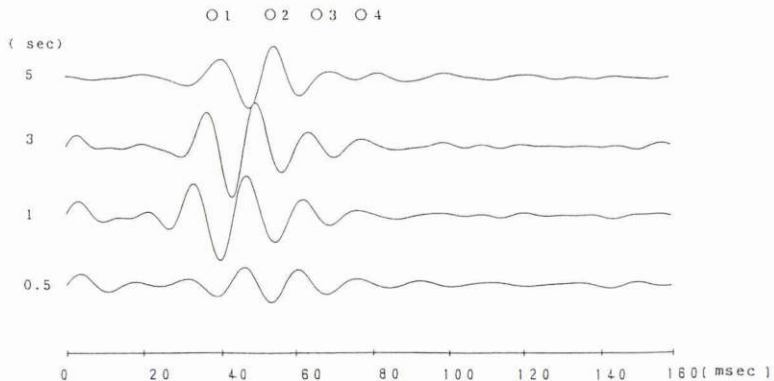


図8 逆フーリエ変換時の刺激間隔による律動様小波の変化の1例 (刺激強度—1log unit)

表3 逆フーリエ変換時の刺激間隔による律動様小波成分の変化
O₁ は O₁ の頂点潜時, T₁, T₂, T₃ はそれぞれ O₁-O₂, O₂-O₃, O₃-O₄ の頂点間隔を示す. (刺激強度—1 log unit, N=5)

刺激間隔 (sec)	O ₁ (msec)		T ₁ (msec)		T ₂ (msec)		T ₃ (msec)	
	平均	S.D.	平均	S.D.	平均	S.D.	平均	S.D.
5	29.4	4.9	12.4	2.1	13.7	1.7	14.4	2.4
3	29.8	4.9	12.5	1.3	13.8	1.3	14.8	2.4
1	32.3	4.6	12.5	1.1	13.8	1.1	15.4	2.1
0.5	36.4	4.3	12.5	1.8	13.5	1.5	14.8	2.2

子体内電極を使用し、しかも50回の積算平均化を行なった。その結果 S/N は十分に高く、ノイズによる影響はほとんど認められなかった。

逆フーリエ変換にて得られた O₁ 頂点潜時並びに T₁, T₂, T₃ の頂点間隔は、従来の OPs 計測結果⁸⁾ と比べかなり延長した値がみられたが、これは逆フーリエ変換をしたための影響はほとんど無視できるので、

urethane 麻酔の影響⁸⁾⁹⁾ が大きく関与しているものと思推される。しかし、ERG 波形全体としては従来の波形とほとんど同じで、刺激が強くなるにつれての O₁ 頂点潜時の短縮、T₁, T₂, T₃ 頂点間隔の延長の傾向は、従来のヒト ERG OPs 波形においても観察された現象¹⁰⁾ である。

刺激間隔の短縮による O₁ 頂点潜時の延長は、ヒト

表4 MEM解析時の刺激間隔による律動様小波成分スペクトルの変化
peak 1は周波数の低いピーク, peak 2は周波数の高いピークを示す。(刺激強度-1 log unit, N=5)

刺激間隔 (sec)	peak 1 (Hz)		peak 2 (Hz)	
	平均	S.D.	平均	S.D.
5	57.8	11.3	84.6	7.4
3	57.6	10.3	86.4	11.6
1	61.0	9.9	84.2	9.7
0.5	59.2	10.9	84.8	13.3

ERG OPs 波形においても観察されている¹¹⁾が,繰返し刺激光による明順応効果というよりも,先行刺激による影響,すなわち,Granit¹²⁾の興奮抑制によるものと考えられる.

MEMによる解析は,原波形を解析せずに,逆フーリエ変換にてOPsを含む周波数帯のみを取り出して行なったが,これは原波形ではOPsはb波の上行脚に重畳しているため,OPsの存在する周波数帯域に対するb波の成分による影響が非常に大きいためである.

さきに述べたごとくFFTによるスペクトル解析では,周波数分解能が十分でなく,かつ標本点数は2の累乗に限定され任意の区間のみの解析は出来ない.OPsの認められる周波数帯域には,a波とくにap波(a波底に見られる陽性のhump)⁸⁾による成分も含まれていると思われ,そのため刺激条件により結果が一定しないものと思われる.Gurら⁵⁾は人眼において,線形予報によるERGのスペクトル解析で,OPsの存在する周波数帯に2つのピークが認められると報告しているが,これはOPs成分以外を含んでいる可能性がある.今回のMEMによるスペクトル解析では,FFTに比べて自己回帰モデルの次数決定が難しく,計算時間が長いなどの欠点はあるが,周波数分解能がFFTに比して非常に高く,また標本点数による制限は少ない⁶⁾ので,OPsの認められる区間のみを解析できる(表5).このため,OPs成分のみを解析でき,これを59.0Hz前後のpeak 1と85.5Hz前後のpeak 2の2つの成分に分離できたものと思われる.

今回は刺激強度と刺激間隔を変化させての解析を試みたが,両成分は前者において強刺激に呼応して低周波数へとシフトする反応を示した.これに対して,後者では刺激間隔に呼応しての変化はほとんどみられなかった.これは逆フーリエ変換時のOPs各々の頂点間隔(T₁, T₂, T₃)の刺激強度,刺激間隔の変化に応ず

表5 高速フーリエ変換(FFT)と比較した最大エントロピー法(MEM)の特徴

長所	・スペクトル分解能が非常に高い ・信号周期に対してデータ長が短い場合でもスペクトル推定ができる ・雑音に対して比較的強い
短所	・自己回帰モデルの次数決定が難しい ・MEMによるスペクトル推定は非線形的な方法である ・FFTに比べ計算時間が長い ・小さい次数の自己回帰モデル(または全極モデル)で表現できる確率過程しか直接の応用はできない

る反応と一致している.

OPsが単一の起源を持つとは考え難いという報告はこれまでに,多数存在する^{13)~17)}.今回の報告はこれらの見解を裏づけるものである.OPsの2つの成分は,網膜中層の2つの主なニューロン・サーキット¹⁾,すなわち,双極細胞-アマクリン細胞回路(neural feedback circuits)と双極細胞-アマクリン細胞-網状層間細胞-水平細胞回路(intraretinal centrifugal pathway)の双方に関与し(関与のしかたは今後なお慎重な検討を要するが),OPsは各々が干渉,同期した結果であると考えられる.さらに,ラットは桿体優位とはいえ混合網膜¹³⁾⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾であるため,桿体系と錐体系を含めたon応答としてのアマクリン細胞を中心とした内顆粒層レベルのpostsynapticな網膜内神経要素の活動を反映する²⁰⁾ともいえる.

前者における関与のしかたの研究は,網状層間細胞の細胞内電位変化の記録や,選択的破壊が可能になればできると思われる.後者における関与のしかたは,律動様小波の背景光による変化と刺激光の波長による変化を今回と同様の手法で分析することにより証明することが可能であると考えられる.

桿体系,錐体系のon応答関与の問題はさておき,OPsが主に2つの波の同期,干渉の結果であるとする,OPsの従来のO₁~O₄の各々の振幅や頂点潜時の計測による解析は再考を要すると思われ,とくに位相の分析にはMEMにより2つの成分を分離して,各々の周波数の解析を計るべきであると考えられる.

本論文の要旨は第91回日本眼科学会総会にて発表した.ご指導,ご校閲を賜った本学第1生理学教室の瀬戸勝男教授に厚く感謝致します.

文 献

1) 米村大蔵,河崎一夫:臨床網膜電図学.東京,医学書院,104—123,1985.

- 2) **Algvere P, Westbeck S**: Human ERG in response to double flashes of light during the course of dark adaptation: A Fourier analysis of the oscillatory potentials. *Vision Res* 12: 195—214, 1972.
- 3) **Algvere P, Wachtmeister L, Westbeck S**: On the oscillatory potentials of the human electroretinogram in light and dark adaptation. I. Thresholds and relation to stimulus intensity on adaptaton to short flashes of light. A Fourier analysis. *Acta Ophthalmol* 50: 737—759, 1972.
- 4) **Algvere P, Wachtmeister L**: On the oscillatory potentials of the human electroretinogram in light and dark adaptation. II. Effect of adaptation to background light and subsequent recovery in the dark. A Fourier analysis. *Acta Ophthalmol* 50: 832—862, 1972.
- 5) **Gur M, Zeevi Y**: Frequency-domain analysis of the human electroretinogram. *J Opt Soc Am* 70: 53—59, 1980.
- 6) **日野幹雄**: スペクトル解析. 朝倉書店, 東京, 183—236, 1982.
- 7) **南 茂夫**: 科学計測のための波形データ処理. 東京, CQ 出版, 140—180, 1986.
- 8) **玉井嗣彦, 田中 清**: 正常白色ラットの ERG. *眼紀* 24: 719—723, 1973.
- 9) **稲富 誠, 杉町剛美, 中島 章**: 麻酔薬のラットにおよぼす影響. *眼紀* 29: 737—742, 1978.
- 10) **児島 守**: 人眼網膜電図における律動様小波の特性に関する研究. 第1報. 暗所視律動様小波 (on response) について. *日眼* 82: 652—656, 1978.
- 11) **児島 守**: 人眼網膜電図における律動様小波の特性に関する研究. 第II報. 明所視律動様小波 (on, off response) について. *日眼* 82: 657—664, 1978.
- 12) **Granit R.**: Stimulus intensity in relation to excitation and pre- and postexcitatory inhibition in isolated elements of mammalian retinae. *J Physiol* 103: 103—118, 1944.
- 13) **渡辺郁緒, Hellner KA**: 律動様小波の色感受曲線について. II. ラットについて. *日眼* 79: 15—19, 1975.
- 14) **Heynen H, Wachtmeister L, van Norren D**: Origin of the oscillatory potentials in the primate retina. *Vision Res* 25: 1365—1373, 1985.
- 15) **Wachtmeister L, Dowling JE**: The oscillatory potentials of the mudpuppy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 17: 1176—1188, 1978.
- 16) **Korth M, Reiman V**: Stimulus alternation and fast retinal potentials: Photopic and scotopic contributions. *Acta Ophthalmol* 57: 369—381, 1979.
- 17) **King-Smith PE, Loffing DH, Jones R**: Rod and cone ERGs and their oscillatory potentials. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27: 270—273, 1986.
- 18) **Dowling JE**: Visual adaptation. Its mechanism. *Science* 157: 584—586, 1967.
- 19) **Sokol S**: Cortical and retinal spectral sensitivity of the hooded rat. *Vision Res* 10: 253—263, 1970.
- 20) **横山 実**: 網膜のニューロンとシナプス回路. *新しい眼科* 4: 641—648, 1987.

(第91回日眼総会原著)